



TITLE:

Alectinib Resistance in ALK-Rearranged Lung Cancer by Dual Salvage Signaling in a Clinically Paired Resistance Model(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Tsuji, Takahiro

CITATION:

Tsuji, Takahiro. Alectinib Resistance in ALK-Rearranged Lung Cancer by Dual Salvage Signaling in a Clinically Paired Resistance Model. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21956>

RIGHT:

Final publication is available at <https://www.doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-18-0325>

京都大学	博士（医学）	氏 名	辻 貴宏
論文題目	Alectinib Resistance in ALK-Rearranged Lung Cancer by Dual Salvage Signaling in a Clinically Paired Resistance Model (ALK 陽性肺がんにおけるアレクチニブ耐性は、二重のサルベージシグナル経路によってもたらされる -臨床由来ペア耐性モデルを用いた検討-)		
(論文内容の要旨)			
<p>肺癌におけるドライバー遺伝子変異・転座の一つである EML4 (echinoderm microtubule associated protein-like 4) -ALK (anaplastic lymphoma kinase) 融合遺伝子の発見と標的治療の開発は、ALK 陽性肺癌の予後を延長した。特に近年臨床応用された第二世代 ALK 阻害剤アレクチニブは本邦で開発され、強い腫瘍制御と予後延長効果を持つ有望な治療だが、腫瘍はいずれ薬剤耐性を獲得することが課題である。アレクチニブへの薬剤耐性機序は不明な点が多く解明が待たれるが、患者数が限られ、入手可能な ALK 陽性肺癌の細胞株が少ないことが、研究を困難にする一因となっている。本研究ではこの課題を解決する作業仮説として、1 人の ALK 陽性肺癌において患者の未治療時（診断時）と、アレクチニブ耐性獲得直後より癌細胞を採取し、各々から継代培養可能な細胞株を樹立して、これら 2 細胞株の遺伝子解析やタンパク発現プロファイル、種々の治療への反応を比較することで、耐性機序を同定できると考えた（臨床由来ペア耐性モデル）。</p> <p>アレクチニブの臨床由来ペア耐性モデルを樹立し、同一患者のアレクチニブ感受性細胞株と耐性獲得後細胞株を得た。遺伝子解析、リン酸化プロテオーム解析によるスクリーニングで、耐性獲得後細胞株は感受性細胞株と比較し、がん原遺伝子チロシンプロテインキナーゼ c-Src が活性化していることを同定した。また、患者の治療経過から耐性獲得後に MET（肝細胞増殖因子受容体）も活性化が推測されたことから、c-Src と MET の 2 因子を獲得耐性規定因子の候補とした。</p> <p>次に、これら 2 因子の機能解析を行った。耐性獲得後細胞株において、c-Src と MET の薬剤での共阻害、siRNA を用いた <i>SRC</i>, <i>MET</i> のダブル・ノックダウンともに、アレクチニブの耐性解除が確認され、いずれか一つの阻害では、耐性の解除には不十分であった。また、ALK の下流にある細胞増殖、抗アポトーシスをもたらす PI3K/Akt 経路（PI3 キナーゼ/Akt 経路）と MAPK 経路（Mitogen-activated protein kinase; 分裂促進因子活性化プロテインキナーゼ）のシグナル活性の変化を解析した。感受性細胞では ALK 阻害のみで下流の PI3K/Akt と MAPK シグナルが抑制された一方、耐性獲得後細胞株では c-Src、MET、ALK の 3 因子が同時に抑制されたときに、下流のシグナルが抑制された。</p> <p>次に免疫不全マウス（ヌードマウス）に耐性獲得後細胞株を皮下注射して異種移植モデルを作成し、c-Src と MET を標的とした治療が有効かを <i>in vivo</i> で検討した。クリゾチニブ（MET、ALK 阻害剤）単独療法、サラカチニブ（c-Src 阻害剤）単独療法、併用療法、コントロール（溶媒のみ投与）の 4 治療群では、併用療法が腫瘍縮小に有効であった。</p> <p>以上の結果から 3 つの成果、すなわち、①新たな ALK 陽性肺癌の細胞株を樹立し、今後の研究に有用なバイオリソースをもたらしたこと、②アレクチニブ耐性の一因として、c-Src と MET のバイパスシグナルの関与が示唆され、標的治療となる可能性が示されたこと、③臨床由来ペア耐性モデルが、比較的容易に耐性規定因子の候補を同定できる可能性を示したことが得られた。本手法は比較的少数の患者を対象として研究できることから、ALK 陽性肺癌に限らず、頻度の稀な腫瘍の研究に有用であると考えられた。</p>			

（論文審査の結果の要旨）			
ALK（anaplastic lymphoma kinase）阻害剤であるアレクチニブは、ALK 遺伝子異常を有する非小細胞肺癌患者に対する極めて有効な治療であるものの、ほとんどすべての患者が治療中に薬剤耐性を獲得し病状は再燃する。アレクチニブの耐性克服は今後の大きな課題であるが、アレクチニブの薬剤耐性機序そのものが未だ十分に解明されていない。			
本研究では 1 人の ALK 陽性肺癌患者から、治療前とアレクチニブに耐性を獲得した時の 2 時点で癌細胞を採取し、各々継代培養して比較可能な細胞株を樹立した。これら 2 細胞株の蛋白リン酸化プロファイルの比較と生化学的・薬理学的な機能解析を通じて、アレクチニブ耐性機序の一つが c-Src と MET によるバイパスシグナルであることを同定し、検証した。また、ALK 陽性肺癌由来の培養細胞株 H2228 を用いてその再現性を確認した。			
本研究で新たに解明された耐性機序はアレクチニブの耐性克服に大きく寄与するものである。また、実際の患者において耐性獲得前後の検体を比較検討する本手法は、ほかのさまざまな分子標的薬剤の耐性機序の解析にも応用可能であるのみならず、個々の患者における耐性機序に基づいた個別化治療の進歩に寄与するところが多い。			
したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。			
なお、本学位授与申請者は、平成 31 年 3 月 19 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			